

DOI:10.11931/guihaia.gxzw201711035

罗汉果花气味物质量化分析方法研究

方振名^{1, 2}, 胡兴华^{2*}, 刘长秋², 黄仕训²

(1. 广西师范大学生命科学学院, 广西 桂林 541004; 2. 广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所, 广西 桂林 541006)

摘要: 罗汉果(*Siraitia grosvenorii*)是葫芦科著名的药食两用植物, 广泛种植于广西桂林地区, 其开花后传粉不良现象迫切需要研究解决。该文以罗汉果雄花为材料, 研究了罗汉果花朵气味物质的量化分析方法, 以期为研究罗汉果花朵气味物质与传粉者访花频率关系, 最终查明传粉不良产生原因奠定基础。实验以动态顶空吸附法收集新鲜花朵的气味物质, 经过洗脱、洗脱液吹氮和 GC-MS 分析等步骤, 先后完成了花朵气味物质的收集、浓缩、分离和鉴定, 最后以峰面积归一化法计算各化学组分相对含量。结果表明: 供试花朵检测到挥发性组分包括萜烯类物质 5 种, 以及芳香烃类、烷烃类、酯类物质各 1 种, 其中萜烯类物质的相对含量达到 71.07%, 是供试花朵最主要的挥发性化合物。该结果高度符合葫芦科植物花朵气味的化学组分特征, 并具有良好的实验重复性, 表明该实验体系是收集和鉴定罗汉果花朵气味组分的理想方法, 为后续开展罗汉果花气味物质研究奠定了重要基础。同时, 通过与葫芦科多种植物比较, 发现罗汉果的花朵气味物质可能存在雌雄二型性。

关键词: 罗汉果, 花气味物质, 动态顶空吸附, GC-MS 分析, 葫芦科

中图分类号: Q94-3

文献标识码: A

A new method for quantitative analysis of flower scent of *Siraitia grosvenorii*

FANG Zhenming^{1,2}, HU Xinghua^{2*}, LIU Changqiu², HUANG Shixun²

(1. College of Life Sciences, Guangxi Normal University, Guilin 541004, Guangxi, China;

2. Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and the Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, Guangxi, China)

Abstract: The diecious *Siraitia grosvenorii* is a famous edible and medicinal plant in Cucurbitaceae, and both the food parts and medicinal parts of this plant are their fruit. Because of the important economic value, this plant has been widely farmed for a long history in northeast

基金项目: 国家自然科学基金(31560068); 中国科学院“西部之光”人才培养计划项目; 广西师范大学—广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所研究生联合培养基地示范建设项目。[Supported by the National Natural Science Foundation of China(31560068); West Light Program for Talent Cultivation of Chinese Academy of Sciences; Exemplary Construction Projects of Graduate Student Joint Training Base of Guangxi Normal University-Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences]

作者简介: 方振名(1991 -), 男, 广西平南人, 硕士研究生, 主要研究方向为植物传粉生物学, (E-mail) fangzhenming112@163.com。

***通信作者:** 胡兴华, 博士, 副研究员, 主要从事植物繁殖生态学与保护生物学研究, (E-mail) huxh773@163.com。

part of Guangxi, China. However, due to the serious pollen limitation in flowering period, this plant could not bear fruits unless artificial pollination had been conducted for the female flowers, resulting in huge consuming of laboring time and high financial cost in crop farming. The biological mechanism of pollen limitation in *S. grosvenorii* is urgently needed to be studied to provide a theoretical framework for the breeding of new varieties that do not have pollen limitation. In the relations between plant and the pollinator, flower scent plays very important functions in pollinator attracting, and the analysis of volatile compounds released by flowers form the basis of flower scent study. Thus, quantitative analysis of volatile compounds in the flowers of *S. grosvenorii* will shed light into the study of biological mechanism of pollen limitation in this plant. However, the solid and reasonable method of both collecting and identifying for volatile compounds of *S. grosvenorii* flowers is still unavailable. Here, we reported a new method for floral volatile compounds quantitative analysis for *S. grosvenorii*. We collected the volatile compounds of fresh male flowers of *S. grosvenorii* by dynamic headspace adsorption technique. After elution of the absorption column, the eluent was concentrated by nitrogen blowing method. Subsequently, the concentrated eluent was analyzed by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS). In this process, the collection, concentration, separation and identification of the scent substance in male flowers of *S. grosvenorii* were conducted. Finally, the relative content of each component was calculated by the peak area normalization method. Among the volatile compounds of *S. grosvenorii* male flowers, we totally found 5 terpenes, 1 aromatic hydrocarbons, 1 alkanes and 1 esters, in which the terpenes occupy a relative content of 71.07%, ranking the highest content. This result showed a high agreement with that of the previous studies on floral scent in Cucurbitaceae plants, e. g. *Luffa acutangula*, *Momordica charantia* and *Cucurbita moschata*. Further analysis showed that the experiment system in this study is a solid and efficient method for the quantitative analysis of *S. grosvenorii* flower, laying the important foundation for the floral scent research towards the pollen limitation in this plant.

Key words: *Siraitia grosvenorii*, flower scent, dynamic headspace adsorption (DHSA), GC-MS analysis, Cucurbitaceae

在植物引诱动物访花和传粉的性状中,引起传粉者视觉和嗅觉识别反应的性状有着非常重要的作用(Delle-Vedove et al, 2011)。但是,已有研究主要关注引起视觉反应的花部性状,如花的颜色(Peter & Johnson, 2008; Sara et al, 2016)、花冠大小及形状(Mason & Anne, 2012)等,并揭示了一些重要的传粉与繁育机制(Brodmann et al, 2009; Shuttleworth et al, 2010),但对引起嗅觉识别反应的性状却研究较少(Raguso, 2008)。随着气相色谱-质谱(GC-MS)联用等高灵敏度分析方法的出现,花朵挥发性有机化合物(volatile organic compounds, VOCs)痕量组分的检测能力发生了质的飞跃,花气味物质的量化研究因此得到深入开展(Delle-Vedove et al, 2017)。目前,已有一千多种植物的花朵气味物质得到检测(Knudsen et al, 2006),其中已有部分物质被证明对传粉者有引导功能(Schlumpberger & Raguso, 2008; Shuttleworth & Johnson, 2009)。

GC-MS的出现解决了精确检测气味物质化学组分的问题,但从花朵收集气味物质的方法却尚需发展和完善。传统上,收集花朵气味物质常使用溶剂提取法、水蒸气蒸馏法和超临界流体提取法等,这些方法需要将花朵进行干燥和粉碎,再以溶剂进行浸泡分离,或者在高温条件下进行收集(丁嘉文等, 2015; 赵彦贵和张慧娟, 2018)。由于这些方法破坏了花朵的自然状态,鉴定出的挥发性物质与花朵在自然条件下释放的气味物质差别显著,所以这些方法通常不适用于传粉生物学研究。后来提出的固相微萃取法可在保持花朵处于自然的状态下进行气味物质收集,但其缺点是只能在实验室条件下操作,不能在野外进行花的气味物质收

集(宋述芹等, 2017)。为解决上述各种方法的不足, Jennings et al(1972)提出动态顶空吸附法, 以解决野外收集新鲜花朵气味物质的问题。该方法的收集原理是在半封闭容器中放入新鲜花朵, 之后抽动密闭气路中的空气, 从而把花朵释放的气味成分带出容器到达吸附柱, 并被吸附剂吸附而分离出来。使用该方法收集花朵气味物质后, 吸附柱可在野外环境下长时间存放, 待野外实验结束再移至实验室洗脱析出。后来中国学者李庆良等(2012)对该方法进行了完善, 使之更便于操作和适用于野外实验。

罗汉果 (*Siraitia grosvenorii*) 是葫芦科多年生藤本植物, 果实药食两用, 是广西著名特产, 在广西的农业经济中占有重要比重 (李典鹏和张厚瑞, 2000)。不过, 罗汉果开花后自然传粉严重不良, 需要人工授粉才能坐果, 导致种植成本居高不下, 成为种植业发展的重要限制因子。鉴于花朵气味物质对吸引传粉动物具有重要作用, 罗汉果传粉不良可能与花朵气味物质异常有关。因此, 收集罗汉果花朵气味物质, 并对其化学组分进行精确检测, 通过与葫芦科近缘植物对比分析, 有助于查明罗汉果传粉不良的原因, 对促进罗汉果种植业发展意义重大。考虑不同气味收集方法的优缺点, 动态顶空吸附法更适于罗汉果新鲜花朵气味物质收集和分析, 但该方法尚未在罗汉果中得到成功应用。本研究尝试探索采用动态顶空吸附法收集罗汉果花的气味物质, 并以气相色谱-质谱 (GC-MS) 联用技术分析其组分及含量, 以摸索可精确分析罗汉果花气味物质的技术体系, 为深入开展罗汉果花气味物质研究奠定重要基础。

1. 材料与方法

1.1 材料

为检验试验体系产出结果的准确性和稳定性, 以一个植株的花朵为材料设置重复实验。在自然条件下, 一个植株同期开放的花朵通常具有同一性的气味物质, 有利于检验试验体系在重复试验中的稳定性。罗汉果为雌雄异株植物, 鉴于雄性单株产花量远大于雌性单株, 可取足够的花朵进行重复实验, 因此以雄花为材料开展分析。2016年9月下旬, 从广西植物研究所实验苗圃里1株处于盛花期的罗汉果雄株以洁净剪刀快速剪花30朵, 以10朵为1组, 随机分成3组进行试验。

1.2 仪器与试剂

HP7890A (GC) -5975C (MS) 型气相色谱-质谱联用仪 (美国 Agilent 公司), 聚氟乙烯采集袋 (Tedlar(PVF), 8L, 美国 Dupont 公司), 小流量气体采样泵 (Libra-4, 北京赛福莱博科技有限公司); 活性炭管 (外径 6 mm, 长 75 mm), 吸附柱 (100 mg / 50 mg, 60 目 / 80 目, 外径 6 mm, 长 75 mm, 美国 Sigma-Aldrich 公司), 无味特氟隆管 (PTFE, 美国 Dupont 公司), 棕色进样瓶 (2 ml, 美国 Agilent 公司); 吸附剂 (PoraPak Q80-100, 爱尔兰 Waters 公司), 正己烷 (色谱纯级, 美国 Fisher 公司), 洗耳球, 针头式过滤器, 特制圆柱体玻璃筒 (高 15 cm, 内径 5 cm, 天津市领航实验设备有限公司)。

1.3 气味物质收集系统

采用动态顶空吸附法 (黄代红等, 2015) 收集罗汉果花气味物质。采集的罗汉果新鲜花朵迅速放入特制圆柱体玻璃筒内, 在玻璃筒外套聚氟乙烯采集袋, 以卡条密封采集袋两端。以特氟隆管分别连接采样袋与活性炭管、吸附柱以及气体采样泵 (图 1)。启动气体采样泵, 空气经活性炭管净化后进入采样袋, 经过放置罗汉果花朵的玻璃筒后进入填充了 PoraPak Q 吸附剂的吸附柱, 此时花朵气味物质被吸附剂吸附 (图 1)。气体采样泵的空气流速 $400 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 收集时间为 4 h。以 3 套相同的系统分别同时收集 3 组花的气味物质。

收集完成后, 取洁净棕色进样瓶 3 个, 分别各加入正己烷 500 μL , 把 3 条吸附柱分别垂直插入 1 个进样瓶, 保持正己烷液面刚好没过吸附柱下端开口, 在吸附柱上端开口插入洗耳球, 抽打正己烷反复洗脱吸附管内的吸附剂 30 次, 得到 3 份洗脱液, 再以氮气吹洗洗脱

液，使之浓缩至约 50 μL ，进入下一步的 GC-MS 分析。

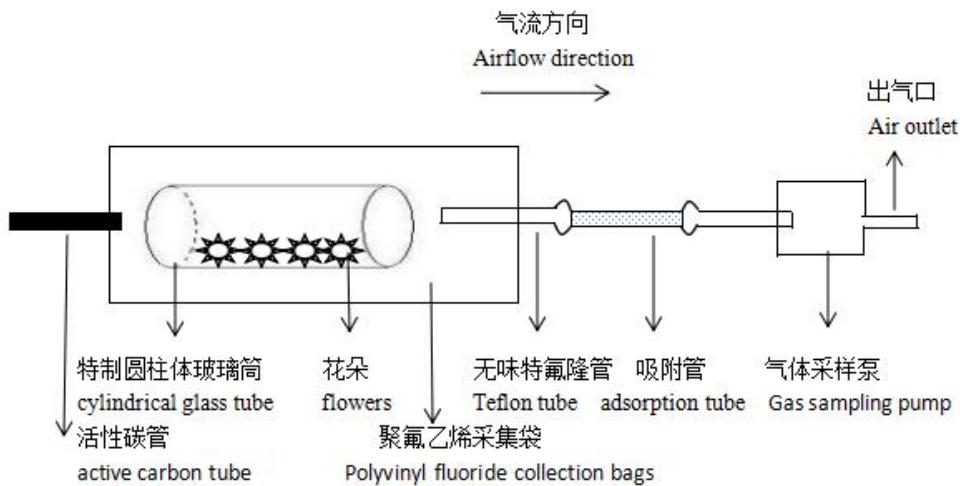


图 1 花气味物质收集装置图

Fig.1 The flower scent material collection device

1.4 气相色谱分析

在黄代红等 (2015) 方法基础上进行适当优化和改进。色谱柱：HP-5MS 石英毛细管柱(30 $\text{m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \mu\text{m}$, Agilent, 美国), 程序升温：40 $^{\circ}\text{C}$ 保持 5 min, 之后以 3 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升温至 100 $^{\circ}\text{C}$ ，再以 5 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升至 200 $^{\circ}\text{C}$ ，保持 5 min；进样量 2 μL ，进样分流比为 4 : 1；进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$ ；载气为高纯 He，流速 1.0 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

1.5 质谱分析

电离方式 EI，质量扫描范围 m/z 35 - 450；电子能量 70 eV；接口温度 280 $^{\circ}\text{C}$ ；离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$ ；四极杆温度 150 $^{\circ}\text{C}$ 。气相色谱检出成分在质谱仪的标准谱库（NIST 05）进行检索，并运用峰面积归一化法计算气味各组分的相对百分含量。

2. 结果与分析

2.1 罗汉果花气味物质气相分析结果

吸附柱的洗脱液经过 GC-MS 分析，获得总离子流图，3 组花的气味物质总离子流图非常相似。在离子流图上可见组分峰 13 个，分别处于第 7 至第 41 分钟间(图 2，仅示重复 1 的总离子流图)。经检索鉴别，其中 5 个为杂质峰，8 个为挥发性有机化合物峰。

Abundance 丰度

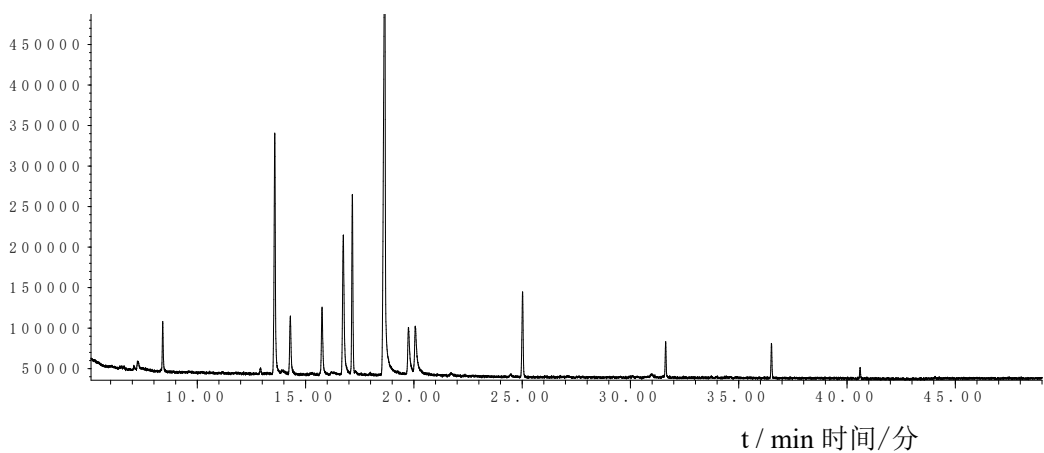


图 2 洗脱液 GC-MS 分析总离子流程图

Fig.2 Total ion chromatograms of the eluent in GC-MS analysis

2.2 罗汉果花气味物质成分

从3份洗脱液中鉴定出的气味物质组分完全相同，均由8种物质组成，其中萜烯类5种，分别为左旋- α -蒎烯、 β -蒎烯、莰烯、 β -月桂烯、柠檬烯；烷烃类1种，为乙酸，双(三甲基硅基氧基氧磷基)，三甲基酯；芳香烃类1种，为1,3-二乙基苯；酯类1种，为2,6-双(三甲基甲硅烷氧基)苯甲酸三甲基甲硅烷基酯。3份洗脱液不仅化学组分完全相同，而且各组分的相对含量也非常接近。例如，三份洗脱液均是萜烯类组分最多，相对含量累计达到71.07%，其中的柠檬烯作为相对含量最高的单一组分，占比达到37.58%。其余组分中，芳香烃类的相对含量为4.25%，烷烃类的为1.78%，酯类的为0.52%(表1)。

表1 3组罗汉果花的气味物质组分

| Table 1 The chemical composition of the volatiles in 3 groups flower of <i>Siraria grosvenorii</i> | | | | | |
|--|--------------------------------|---|-------------------|---|---|
| 编号 Number | 保留时间 Retention time(min) | 化合物 Compound | 相似度 Similarity | 相对分子质量 Relative molecular mass | 相对含量 Relative content(%) ($\bar{x} \pm s$) |
| 1 | 13.580 | 1S- α -Pinene 左旋- α -蒎烯 | 97 | 136.23 | 14.65 \pm 1.43 |
| 2 | 14.295 | Camphene 莰烯 | 98 | 136.23 | 3.79 \pm 0.47 |
| 3 | 15.761 | β -Pinene β -蒎烯 | 94 | 136.23 | 4.55 \pm 0.85 |
| 4 | 16.747 | β -Myrcene β -月桂烯 | 91 | 136.23 | 10.50 \pm 1.31 |
| 5 | 18.657 | Limonene 柠檬烯 | 87 | 136.23 | 37.58 \pm 3.76 |
| 6 | 19.754 | 1,3-diethyl-Benzene 1,3-二乙基苯 | 97 | 134.22 | 4.25 \pm 0.47 |
| 7 | 31.628 | Acetic acid, [bis [(trimethylsilyl) oxy] phosphinyl]-, trimethylsilyl ester 乙酸，双(三甲基硅基氧基 氧磷基)，三甲基酯 | 88 | 356.58 | 1.78 \pm 0.16 |
| 8 | 40.605 | 2,6-Bis (trimethylsilyloxy) benzoic acid trimethylsilyl ester 2,6-双(三甲基甲硅烷氧基) 苯甲酸三甲基甲硅烷基酯 | 88 | 370.66 | 0.52 \pm 0.07 |

3. 讨论

采用动态顶空吸附的方法收集植物花的气味物质，再以GC-MS法精确分析其组分，该方法除了分析精度高，以及可量化分析之外，还因收集系统轻量便携，吸附柱可长时间保存等优点，特别适于在野外收集植物的花朵气味物质，在植物传粉和进化研究中应用前景广阔。如国内学者黄代红等(2016)用该方法收集鉴定了小果叶下珠(*Phyllanthus microcarpus*)雌花和雄花气味化学成分，发现花气味物质存在两性异型性，推测是植物为适应传粉者高度特异的传粉行为的结果。而张振国等(2016)采用该方法收集了三室算盘子(*Epicephala ancylopa*)雌雄花的气味物质，鉴定出24种挥发物，其中单萜类和倍半萜类为主要物质，推测是吸引传粉者弯头细蛾传粉的主要气味成分。

本研究根据罗汉果花朵特征,对动态顶空吸附结合 GC-MS 分析的方法进行了适当优化,形成罗汉果花气味物质量化分析的实验体系。实验检测到萜烯、烷烃、芳香烃和酯类的 8 种挥发性组分。此前研究表明,这些挥发性组分是植物体次生代谢合成的易挥发小分子化合物,是植物花器官最主要的气味物质(Dudareva et al., 2013; 蒋冬月等, 2011),本实验较完整地检测到上述组分,说明实验系统成功收集到了花朵的气味物质。通过与葫芦科植物近缘植物的花朵进行气味物质比较,可以确定这些挥发性组分来源于罗汉果的花朵。在 Fernando & Grün (2001)所检测的丝瓜(*Luffa acutangula*)和苦瓜(*Momordica charantia*) 的花朵气味中,最主要的组分分别有萜烯、芳香烃和酯类,与本实验检测到的挥发性组分高度相似。特别在萜烯类物质中,丝瓜和苦瓜的花朵共有的几种物质,如 α -蒎烯、 β -蒎烯和 β -月桂烯等,都出现在我们检测到的化学组分中(见表 1)。南瓜花的气味物质提供了更好的参照,南瓜(*Cucurbita moschata*) 雄花的气味物质主要由萜烯、烷烃、芳香烃和酯类物质组成,其中萜烯类相对含量最大,约为 49.59%(李昌勤等, 2012),这与本试验的结果几乎完全相同,仅有的差异,是本实验中萜烯类的相对含量更高,达到 71.07%。当然,也有葫芦科植物的花朵气味物质与我们的检测结果不同,如栝楼(*Trichosanthes kirilowii*),其花朵气味物质仅由苯甲醛、苯乙醛和芳香醇组成 (Miyasi et al., 1998),与我们检测罗汉果的结果差异明显,也与苦瓜、丝瓜和南瓜的相去甚远。

总体来看,本实验结果与罗汉果多种近缘植物的花朵气味物质高度相似,可以判断这些挥发性组分是罗汉果雄花的气味物质。同时,由于实验设置的 3 个重复均获得高度相似的化学组分,表明实验体系在重复实验中稳定性良好。综上,本研究为量化分析罗汉果花朵气味物质而设计的试验体系可行有效,为系统研究罗汉果花朵的气味物质奠定重要基础。本研究使用罗汉果雄花为材料进行分析,发现该雄花的气味物质与丝瓜、苦瓜和南瓜的高度相似,考虑后三种植物并未存在传粉不良现象,则罗汉果的传粉不良现象暗示该植物在花朵气味物质上可能存在雌雄二型,导致雌、雄花吸引传粉者的能力失去匹配,这有待后续实验加以探究和验证。

参考文献

- BRODMANN J, TWELE R, FRANCKE W, et al, 2009. Orchid mimics honey bee alarm pheromone in order to attract hornets for pollination [J]. Curr Biol, 19(16): 1368-1372.
- DELLE-VEDOVE R, JUILLET N, BESSIÈRE JM, et al, 2011. Colour-scent associations in a tropical orchid: three colours but two odours [J]. Phytochemistry, 72(8): 735-742.
- DELLE-VEDOVE R, SCHATZ B, DUFAY M, 2017. Understanding intraspecific variation of floral scent in light of evolutionary ecology [J]. Ann Bot, 120(1): 1-20.
- DING JW, CHEN YT, XIE X, et al, 2015. Comparison of four different approaches for the extraction of *Elaeagnus angustifolia* flower volatiles [J]. Plant Sci J, 33(1): 116-125 [丁嘉文, 陈易彤, 谢晓, 等, 2015. 四种不同方法提取沙枣花挥发物的成分分析[J]. 植物科学学报, 33(1): 116-125.]
- DUDAREVA N, KLEMPIEN A, MUHLEMANN JK, et al, 2013. Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds [J]. New Phytol, 198(1): 16-32.

- FERNANDO LN, GRÜN IU, 2001. Headspace-SPME analysis of volatiles of the ridge gourd (*Luffa acutangula*) and bitter gourd (*Momordica charantia*) flowers [J]. Flavour Frag J, 16(4): 289-293.
- HUANG DH, ZHANG ZHG, CHEN GP, et al, 2015. Analysis of the components of floral scent in *Glochidion puberum* using gas chromatography-mass spectrometry with dynamic headspace adsorption [J]. Chin J Chromatogr, 33(3): 318-322. [黄代红, 张振国, 陈国平, 等, 2015. 应用动态顶空吸附-气相色谱-质谱法分析算盘子花气味的化学成分[J]. 色谱, 33(3): 318-322.]
- HUANG DH, CHENG GP, YANG XF, et al, 2016. Analysis of the composition and sexual dimorphism of floral scent in *Phyllanthus microcarpus*[J]. Acta Ecol Sin, 36(13): 4013-4020. [黄代红, 陈国平, 杨晓飞, 等, 2016. 小果叶下珠花气味组成及其两性异型性[J]. 生态学报, 36(13): 4013-4020.]
- JIANG DY, LI YH, 2011. Review on volatile organic compounds of plant [J]. Heilongjiang Agr Sci, (11): 143-149. [蒋冬月, 李永红, 2011. 植物挥发性有机物的研究进展[J]. 黑龙江农业科学, (11): 143-149.]
- JENNINGS WG, WOHLER R, LEWIS MJ, 1972. Gas chromatographic analysis of headspace volatiles of alcoholic beverages [J]. J Food Sci, 37(1): 69-71.
- KNUDSEN JT, ERIKSSON R, GERSHENZON J, et al, 2006. Diversity and distribution of floral scent [J]. Bot Rev, 72(1): 1-120.
- LI CHQ, LU Y, LI XZH, et al, 2012. Volatile constituents from flower of Tianmian *Cucurbita moschata* Duch. by head-space solid micro-extraction coupled with GC-MS [J]. Sci Technol Food Ind, 33(16): 151-152. [李昌勤, 卢引, 李新铮, 等, 2012. HS-SPME-GC-MS 分析甜面大南瓜花挥发性成分[J]. 食品工业科技, 33(16): 151-152.]
- LI DP, ZHANG HR, 2000. Studies and uses of Chinese medicine Luohanguo — a special local product of Guangxi [J]. Guihaia, 20(3): 270-276. [李典鹏, 张厚瑞, 2000. 广西特产植物罗汉果的研究与应用[J]. 广西植物, 20(3): 270-276.]
- LI QL, MA XK, CHENG J, et al, 2012. Quantitative studies of floral color and floral scent [J].

Biodivers Sci, 20(3): 308-316. [李庆良, 马晓开, 程瑾, 等, 2012. 花颜色和花气味的量化研究方法[J]. 生物多样性, 20(3): 308-316.]

MASON WK, ANNE CW, 2012. Selection on floral design in *Polemonium brandegeei* (Polemoniaceae): female and male fitness under hawkmoth pollination [J]. Evolution, 66(5): 1344-1357.

MIYAKE T, YAMAOKA R, YAHARA T, 1998. Floral scents of hawkmoth-pollinated flowers in Japan [J]. J Plant Res, 111(2): 199-205.

PETER CI, JOHNSON SD, 2008. Mimics and magnets: the importance of color and ecological facilitation in floral deception [J]. Ecology, 89, 1583-1595.

RAGUSO RA, 2008. Wake up and smell the roses: the ecology and evolution of floral scent [J]. Annu Rev Ecol Evol S, 39(1): 549-569.

SARA R, JAVIER R, JOSÉ MG, et al, 2016. Pollinators show flower colour preferences but flowers with similar colours do not attract similar pollinators [J]. Ann Bot. 118(2): 249-257.

SCHLUMBERGER BO, RAGUSO RA, 2008. Geographic variation in floral scent of *Echinopsis ancistrophora* (Cactaceae): evidence for constraints on hawkmoth attraction[J]. Oikos, 117(6): 801-814.

SHUTTLEWORTH A, JOHNSON SD, 2009. The importance of scent and nectar filters in a specialized wasp-pollination system [J]. Funct Ecol, 23(5): 931-940.

SHUTTLEWORTH A, JOHNSON SD, JURGENS A, et al, 2010. Floral scents of chafer pollinated asclepiads and a potential hybrid [J]. S Afr J Bot, 76(4): 770-778.

SONG SHQ, GU M, HAO ZHM, et al, 2017. Analysis of volatile compounds in flowers and leaves of *Thymus mongolicus* with solid phase microextraction by GC/MS[J]. Subtrop plant sci, 46(3): 244-247. [宋述芹, 谷茂, 郝卓敏, 等, 2017. 固相微萃取气质联用分析百里香花和叶挥发性成分[J]. 亚热带植物科学, 46(3): 244-247.]

ZHANG ZHG, TENG KJ, LI HH, 2016. Biological characteristics of *Epicephala ancylopa* (Lepidoptera: Gracillariidae) on host *Glochidion* sp. (Phyllanthaceae) and the compositional analysis of its floral scent[J]. Acta Entomol Sin, 59(6): 669-681. [张振国, 滕开建, 李后魂,

2016. 三室算盘子寄主上弯头细蛾的生物学特性及花气味成分分析[J]. 昆虫学报, 59(6): 669-681.]

ZHAO YG, ZHANG HJ, 2018. Analysis of volatile components from buds of *Jusminum nudiflorum* Lindle[J]. Chem Bioeng, 35(3): 66-6. [赵彦贵, 张慧娟, 2018. 迎春花花蕾挥发性成分分析[J]. 化学与生物工程, 35(3): 66-68.]